

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2005 年 9 月 1 日 (01.09.2005)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2005/079863 A1

(51) 国際特許分類: A61K 49/00, 51/04, C07D  
207/04, 295/18, C07C 251/24, 317/50

府大阪市中央区道修町 3 丁目 4 番 7 号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/000308

(74) 代理人: 野河 信太郎 (NOGAWA, Shintaro); 〒5300047  
大阪府大阪市北区西天満 5 丁目 1-3 南森町パークビル 野河特許事務所 Osaka (JP).

(22) 国際出願日: 2005 年 1 月 13 日 (13.01.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2004-049996 2004 年 2 月 25 日 (25.02.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5418514 大阪府大阪市中央区道修町 3 丁目 4 番 7 号 Osaka (JP).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 村上 佳裕 (MURAKAMI, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒5418514 大阪府大阪市中央区道修町 3 丁目 4 番 7 号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 青木 俊明 (AOKI, Toshiaki) [JP/JP]; 〒5418514 大阪府大阪市中央区道修町 3 丁目 4 番 7 号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 高松 宏幸 (TAKAMATSU, Hiroyuki) [JP/JP]; 〒5418514 大阪府大阪市中央区道修町 3 丁目 4 番 7 号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 西村 伸太郎 (NISHIMURA, Shintaro) [JP/JP]; 〒5418514 大阪府大阪市中央区道修町 3 丁目 4 番 7 号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 襲田 一彦 (OSODA, Kazuhiko) [JP/JP]; 〒5418514 大阪

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CONTRAST MEDIUM FOR THROMBUS FORMATION

(54) 発明の名称: 血栓造影剤

(57) Abstract: It is intended to provide a contrast medium for thrombus formation capable of binding specifically to a thrombus, lowering background noise and thus improving the resolution in a contrast examination for thrombus formation; and a method of detecting a thrombus by using the same. A contrast medium for thrombus formation comprising, as the active substance, a substance obtained by labeling a compound capable of binding to GPIIb/IIIa which is selected from among compounds represented by the general formulae (I) to (IV) and physiologically acceptable salts thereof; and a method of detecting a thrombus by using the same.

(57) 要約: 血栓に特異的に結合することができ、バックグラウンドノイズを低下させ、血栓造影の解像度を向上させることができる血栓造影剤、およびそれを用いた血栓の検出方法を提供する。本発明は、一般式 (I) ~ (IV) で表される化合物および生理的に許容されるそれらの塩から選択される、GPIIb/IIIa 結合性化合物を標識化してなる物質を作用物質として含む血栓造影剤、およびこれを用いた血栓の検出方法である。



WO 2005/079863 A1

## 明 細 書

### 血栓造影剤

### 技術分野

[0001] 本発明は、糖タンパク質(GP)IIb／IIIa結合性化合物を含む血栓造影剤に関するものである。

### 背景技術

[0002] 血管内で引き起こされる病的血栓形成は、心筋梗塞、脳梗塞、末梢神経循環障害等の虚血性疾患の発症原因であるが、実際には病態において血栓形成の経時変化、分布についてはあまり知られていない。それは、今日まで血栓形成を定量的に感度良くとらえる造影法が確立されていないことが要因である。このような造影法が確立されれば、脳梗塞薬の薬効評価、抗血栓剤等の薬剤の効果が期待できる新しい病態の探索等にきわめて有用な方法になり得ると考えられる。

[0003] 血栓造影に関する研究としては、放射性テクネチウム( $^{99m}\text{Tc}$ )で標識したペプチドP280を用いた深部静脈血栓症患者における血栓の造影(非特許文献1)、 $^{99m}\text{Tc}$ で標識した活性血小板レセプター結合ペプチドを用いたイヌ静脈血栓の造影(非特許文献2)、放射性ヨウ素( $^{125}\text{I}$ )で標識したタンパク質を用いたイヌ深部静脈血栓の造影(非特許文献3)等の報告がある。

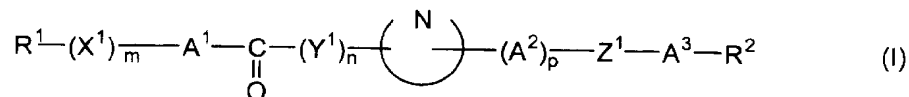
すなわち、アデノシンジホスフェート(ADP)誘導血小板凝集阻害試験において、 $\text{IC}_{50} = 0.087 \mu\text{M}$ を示す標識したペプチドまたは $\text{IC}_{50} = 0.079 \mu\text{M} \pm 0.017 \mu\text{M}$ を示す標識したペプチドを用いて血栓の造影を行い得ることが知られている(非特許文献1および非特許文献2)。また、ADPで活性化した血小板に結合性を示す標識したタンパク質を用いて血栓の造影を行ない得ることも知られている(非特許文献3)。

[0004] 血栓の主たる構成成分は血小板であり、その膜上にはGPIIb／IIIaが存在する。GPIIb／IIIaは、血小板および血小板産生細胞にしか発現しておらず、血流中に静止型GPIIb／IIIaが存在し、血栓形成部位に活性型GPIIb／IIIaが特異的に存在することが知られている。GPIIb／IIIaは、接着性タンパク質フィブリノゲン(フィブリンの前駆体)、フィブロネクチン、フォン・ウィルブランド因子、ヴィトロネクチンのレセプターと

して機能し、血栓形成に重要な役割を果たしている。

[0005] 一方、フィブリノゲン受容体アンタゴニストとして、一般式(I):

[化1]



[0006] (式中、 $R^1$ は、1つ以上の置換基を有していてもよいN-含有シクロアルキル基を表し；

$R^2$ は、カルボキシ基または保護されたカルボキシ基を表し；

$A^1$ は、それぞれ1つ以上の置換基を有していてもよい低級アルキレン基、低級アルカニル-イリデン基または低級アルケニレン基を表し；

$A^2$ は、低級アルキレン基を表し；

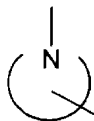
$A^3$ は、1つ以上の置換基を有していてもよい低級アルキレン基を表し；

[0007] [化2]



[0008] で表される部分は、式：

[0009] [化3]



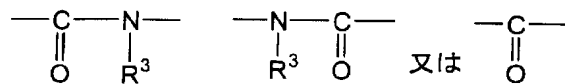
[0010] で表される、1つ以上の置換基を有していてもよいN-含有複素環式基であり；

$X^1$ は、O、SまたはNHを表し；

$Y^1$ は、NHを表し；

$Z^1$ は、

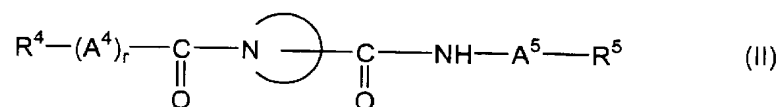
[0011] [化4]

[0012] (ここで、 $R^3$ は水素原子または低級アルキル基である)を表し;

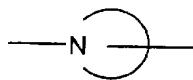
m、nおよびpは、同一または異なって、それぞれ、0または1の整数を表す)

で表される化合物、一般式(II):

[0013] [化5]

[0014] (式中、 $R^4$ は、ピペリジル基、テトラヒドロピリジル基、アゼチジニル基またはテトラヒドロイソキノリル基を表し、これらのピペリジル基、テトラヒドロピリジル基、アゼチジニル基およびテトラヒドロイソキノリル基はアミノ保護基を有していてもよい; $R^5$ は、カルボキシ基または保護されたカルボキシ基を表し; $A^4$ は、低級アルキレン基、低級アルカニル—イリデン基、低級アルケニレン基、シクロ(低級)アルキレン基またはアリーレン基を表し; $A^5$ は、アリーレン基または1つ以上の置換基を有していてもよい低級アルキレン基を表し;

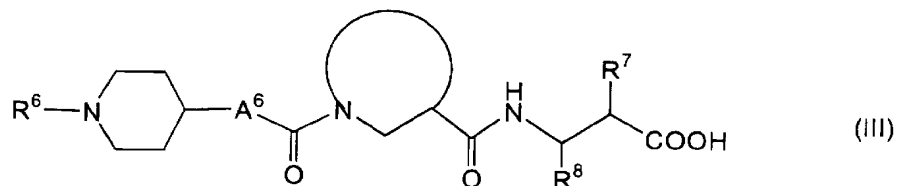
[0015] [化6]



[0016] で表される部分は、ピペリジンジイル基またはテトラヒドロイソキノリンジイル基を表し;rは、0または1の整数を表す)

で表される化合物、一般式(III):

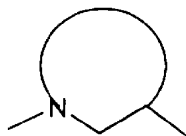
[0017] [化7]

[0018] (式中、 $R^6$ は、水素原子またはアミノ保護基を表し； $A^6$ は、低級アルキレン基または低級アルケニレン基を表し；

$R^7$ は、水素原子；またはアミノ、低級アルカノイルアミノ、アル(低級)アルコキシカルボニルアミノ、アリール、アロイルアミノ、カルボキシ、低級アルコキシカルボニルアミノ、アル(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、低級アルカノイルオキシ、低級アルコキシもしくはヒドロキシ(これらのうち、アリールおよびアロイルアミノはさらにカルボキシ、低級アルコキシもしくは低級アルコキシカルボニルで置換されていてもよい)で置換されていてもよい低級アルカノイル基；低級アルコキシ、アリールもしくはシクロ(低級)アルキルで置換されていてもよい低級アルコキシカルボニル基；低級アルケニルオキシカルボニル基；ジ(低級)アルキルアミノスルホニル基；低級アルコキシで置換されていてもよいシクロアルカノイル基； $(C_3-C_6)$ アルコキシ、カルバモイル(低級)アルコキシ、N-(低級)アルキルカルバモイル(低級)アルコキシ、N,N-ジ(低級)アルキルカルバモイル(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、ニトロ、シアノ、カルボキシ、カルボキシ(低級)アルコキシ、アル(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニル(低級)アルコキシ、シクロ(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニルアミノ、シクロ(低級)アルキル(低級)アルコキシ、低級アルカノイルアミノもしくは低級アルキルカルバモイルで置換されていてもよいアロイル基；アリールオキシカルボニル基；ヘテロサイクリルカルボニル基；保護されたカルボキシカルボニル基ならびにヘテロサイクリルオキシカルボニル基からなる群から選択されるアシル基で置換されていてもよいアミノ基を表し； $R^8$ は、水素原子または1つ以上のヒドロキシおよび／または低級アルコキシで置換されていてもよいアリールもしくはアラルキル基を表し；

式：

[0019] [化8]



[0020] で表される部分は、2価のN-含有6～8員の複素環式基を表す)

で表される化合物等が知られている(特許文献1～4)。

これらの化合物は、GPIIb/IIIa拮抗剤として血栓形成の予防等に有効であることは知られていたが、血栓造影剤として用い得ることは知られていなかった。

特許文献1: 国際公開第95/08536号パンフレット

特許文献2: 国際公開第96/29309号パンフレット

特許文献3: 国際公開第97/33869号パンフレット

特許文献4: 国際公開第01/60813号パンフレット

非特許文献1: Muto P. et al., J. Nucl Med. 1995; 36: p.1384～1391

非特許文献2: Lister-James L. et al., J. Nucl Med. 1996; 37: p.775～781

非特許文献3: Knight L. C. et al., Thromb Haemost., 1998; 80: p.845～851

発明の開示

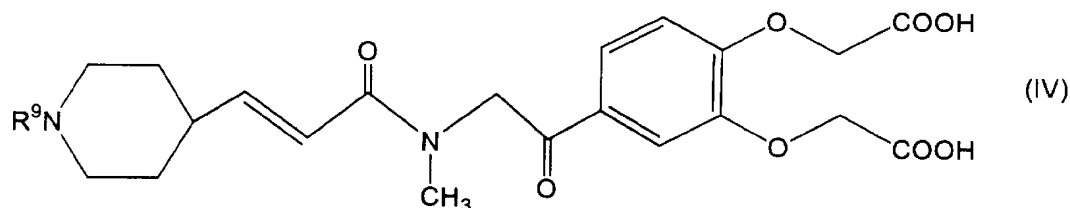
発明が解決しようとする課題

[0021] この発明は、血栓に特異的に結合することができ、バックグラウンドノイズを低下させ、血栓造影の解像度を向上させることができる血栓造影剤、およびそれを用いた血栓の検出方法を提供することを課題としている。

課題を解決するための手段

[0022] 本発明は、上記の一般式(I)～(III)および下記の式(IV):

[0023] [化9]

[0024] (式中、R<sup>9</sup>は水素原子またはアミノ保護基を表す)

で表される化合物ならびに生理的に許容されるそれらの塩から選択される、GPIIb／IIIa結合性化合物を標識化してなる物質を作用物質として含む血栓造影剤を提供するものである。

[0025] 本発明は、また、上記の一般式(IV)で表される化合物および生理的に許容されるその塩を提供するものである。

本発明は、さらに、上記の血栓造影剤を哺乳動物に投与し、血栓に局在化した標識を検出する工程を含む血栓の検出方法をも提供するものである。

### 発明の効果

[0026] 本発明の血栓造影剤は、血栓に特異的に結合することができることから、バックグラウンドが少なく解像度を向上させた血栓の造影を行うことが可能であるという効果を奏する。

### 発明を実施するための最良の形態

[0027] 本発明は、GPIIb／IIIa結合性化合物を標識化してなる物質を作用物質として含む血栓造影剤である。

上記GPIIb／IIIa結合性化合物は、血小板表面に産生するGPIIb／IIIaに結合性を有する化合物であればよく、好ましくは、活性型GPIIb／IIIaに選択的に結合性を有する化合物である。このようなGPIIb／IIIa結合性化合物を用いることにより、血栓の主たる構成成分である血小板の膜上に存在する活性型GPIIb／IIIaに特異的に結合し、血流中に存在する静止型GPIIb／IIIaに結合性が低い血栓造影剤を得ることができる。

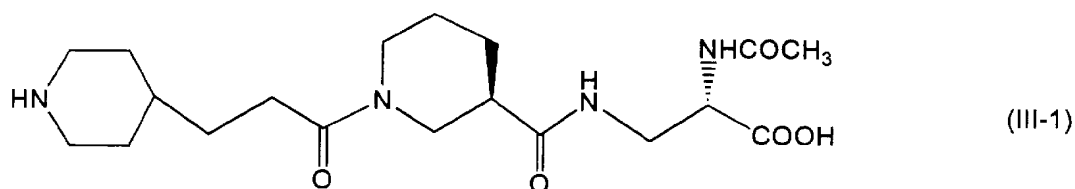
[0028] 本明細書において、GPIIb／IIIaに結合性を有する化合物としては、後記のアデノ

シンジホスフェート(ADP)により誘導される血小板凝集阻害活性の測定方法により、活性化された血小板の凝集阻害が観察される化合物が好ましい。

上記のGPIIb／IIIa結合性化合物は、後記の血小板凝集阻害活性の測定結果およびプロスタグランジンE1(PGE1)処理血小板のフィブリノゲン粘着抑制活性の測定結果を用いて、R／A比を算出することにより、活性型GPIIb／IIIaに対する特異的結合性を判定することができる。

[0029] 本発明におけるGPIIb／IIIa結合性化合物は、上記の一般式(I)～(IV)で表される化合物およびそれらの生理的に許容される塩から選択される化合物であり、好ましくは、下記の式(III-1)：

[0030] [化10]



[0031] または上記の式(IV)で表される化合物および生理的に許容されるそれらの塩である。

上記の一般式(I)で表される化合物としては、国際公開公報WO95／08536号に記載の化合物を含む。上記の一般式(II)で表される化合物としては、国際公開公報WO96／29309号に記載の化合物を含む。上記の一般式(III)で表される化合物としては、国際公開公報WO97／33869号、国際公開公報WO01／60813号および国際公開公報WO00／21932号に記載の化合物を含む。

[0032] GPIIb／IIIa結合性化合物としては、また、国際公開公報WO95／25091号、国際公開公報WO97／41102号、国際公開公報WO99／21832号に記載の化合物等を用いてもよい。

従って、上記の一般式(I)～(III)の化合物の詳細については、ここに参考文献として組み込まれるこれらの特許文献を参照されたい。

因みに、アミノ保護基としては、通常のアミノ保護基を用いることができ、アセチル、プロピオニル等の低級アルカノイル基；ベンゾイル、ナフトイル等のアロイル基；ベン

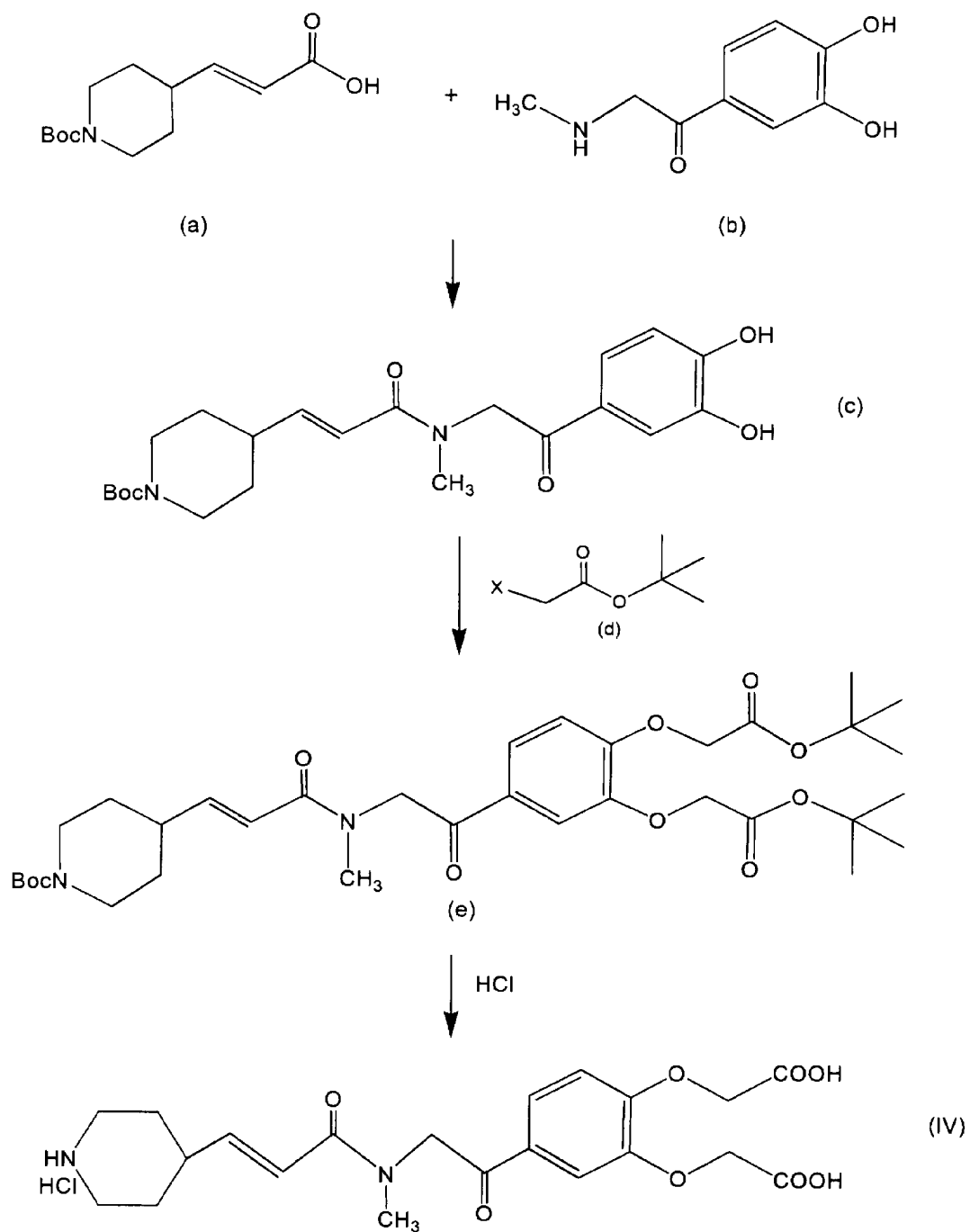


ジル、4-ニトロベンジル、フェネチル、1-フェネチル、ベンズヒドリル、トリチル等の置換基を有していてもよいアル(低級)アルキル基;tert-ブチルオキシカルボニル等の低級アルコキシカルボニル基;ベンジルオキシカルボニル、フルオレニルメトキシカルボニル等のアル(低級)アルコキシカルボニル基等が挙げられる。

[0033] また、一般式(I)〜(IV)の化合物の生理的に許容される塩としては、通常の新毒性な生理的に許容される塩であればよく、無機塩基、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属、アンモニウムとの塩;有機塩基、例えば、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン等の有機アミンとの塩;塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸付加塩;ギ酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩等の有機カルボン酸またはスルホン酸付加塩;アルギニン、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等の塩基性または酸性アミノ酸との塩等が挙げられる。

[0034] 本発明におけるGPIIb/IIIa結合性化合物のうち、一般式(IV)で表される化合物は、例えば、次に示す方法により製造することができる。

[0035] [化11]



(式中、Xは、ハロゲン原子を表す)

[0036] 式(a)の化合物と式(b)の化合物との反応は、適切な縮合剤の存在下で行うことが好ましい。上記縮合剤としては、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミ

ド塩酸塩、DCC(ジシクロヘキシルカルボジイミド)等を用いることができ、中でも、1-エチルー3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩が好ましい。

[0037] 式(d)において、Xで表されるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子またはヨウ素原子のいずれでもよいが、臭素原子が好ましい。

式(c)の化合物と(d)の化合物との反応は、適切な触媒の存在下で行うことが好ましい。触媒としては、ヨウ化テトラブチルアンモニウム等を用いることができる。

このようにして得られる式(e)の化合物における保護基の脱離は、常法により、例えば化合物(e)を塩酸で処理することにより、化合物(IV)へ導くことができる。

[0038] 本発明におけるGPIIb/IIIa結合性化合物は、標識化してなるものである。標識化としては、生理的に許容されるものであればよく、そのようなものとしては、放射性標識、蛍光標識、常磁性標識等が挙げられる。GPIIb/IIIa結合性化合物は、放射性標識により標識化してなるものが好ましい。放射性標識としては、陽電子放射型断層撮影法により検出することができるものが好ましく、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$ 等の陽電子放出同位元素を好適に用いることができる。GPIIb/IIIa結合性化合物は、陽電子放出同位元素により標識してなるものが好ましい。

GPIIb/IIIa結合性化合物を標識する方法としては、従来公知の標識方法を用いることができる。例えば $^{11}\text{C}$ により標識する方法としては、 $[\text{}^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ を用いたメチル化方法等を用いることができる。このような方法により、上記の(I)-(IV)で表される化合物およびそれらの生理的に許容される塩を任意に標識することができる。

[0039] 本発明の血栓造影剤は、さらに、生理的に許容される通常の担体、その他の添加剤を含んでいてもよい。生理的に許容される担体としては、液剤、乳剤、懸濁剤等の調製に際して、通常、使用されるものを用いることができる。その他、例えば、補助剤、安定化剤、濃厚剤、着色剤等も適宜添加することができる。

本発明の血栓造影剤におけるGPIIb/IIIa結合性化合物の含量は、該血栓造影剤を用いた検出において血栓に局在化した標識を検出できる程度であればよく、用途に応じて適宜選択される。

[0040] 上記のようにしてなる血栓造影剤を哺乳動物に投与し、血栓に局在化した標識を検出する工程を含む血栓の検出方法もまた、本発明の一つの実施形態である。

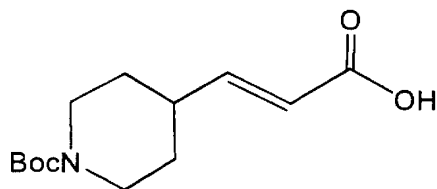
本発明の血栓造影剤の投与量は、標識化したGPIIb／IIIa結合性化合物を検出する検出器の感度により適宜選択される。例えば、サルでは185〜740MBq程度、ヒトでは185〜740MBq程度となる量で投与することが好ましい。

[0041] 標識を検出する工程は、例えば、陽電子放射型断層撮影法を用いて行われる。陽電子放射型断層撮影法としては、例えば、標識化した物質から放出される陽電子を検出し、コンピュータ等で解析することにより生体組織の特定の生化学的性質を反映する断層画像を合成する撮影方法が挙げられる。

### 実施例

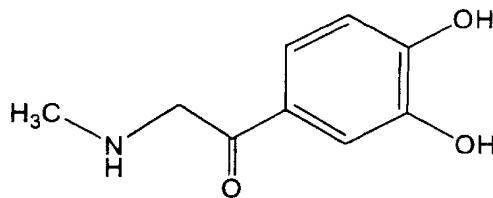
[0042] 製造例1 2,2'-[[4-([メチル[(2E)-3-(4-ピペリジニル)-2-プロペノイル]アミノ]アセチル)-1,2-フェニレン]ビス(オキシ)]ジ酢酸塩酸塩の製造  
ジメチルホルムアミド(DMF; 2ml)中の式:

[0043] [化12]



[0044] で表される(2E)-3-[1-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ピペリジニル]アクリル酸(120mg、0.47mmol)、式:

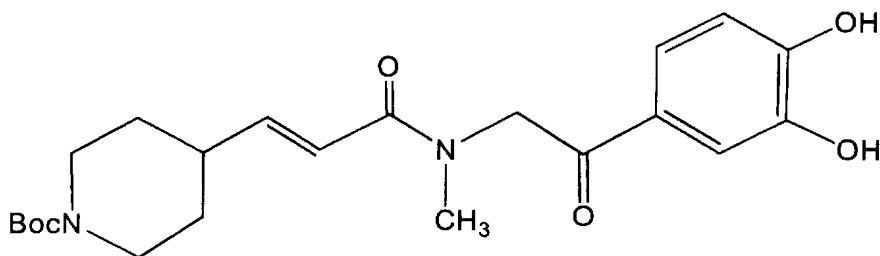
[0045] [化13]



[0046] で表される1-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-(メチルアミノ)エタノン(85.2mg、0.47mmol)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(69.9mg、0.517mmol)の溶液に、氷浴で冷却しながら1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSCD, HCl; 99.1mg、0.517mmol)を添加した。反応混合物を室温で3時間攪

拌した後、窒素気流下で濃縮し、残渣を酢酸エチルと水とに分配した。反応混合物を酢酸エチルで抽出した。有機相を1N HClおよび飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をクロロホルム-メタノール(10:1)混液で溶出する分取薄膜シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、式:

[0047] [化14]

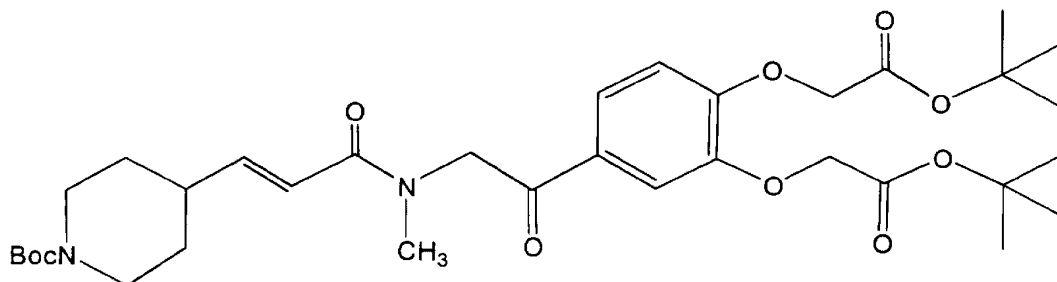


[0048] で表される4-[(1E)-3-[[2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-オキソエチル](メチル)アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート(131mg、66.6%)を油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ ; 1.33-1.45(2H, m), 1.46(9H, s), 1.70-1.82(2H, m), 2.28-2.46(1H, m), 2.71-2.84(2H, m), 2.91(3H, s), 3.49(2H, brs), 4.06-4.22 (2H, m), 4.78(2H, s), 6.37(1H, d,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 6.80(1H, d,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 6.92(1H, dd,  $J=15.8, 7.0\text{Hz}$ ), 7.30(1H, d,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 7.36(1H, s);  $\text{MS}(\text{ES}^+)$   $m/z$  419( $\text{M}+1$ )

[0049] DMF(1.5ml)中の4-[(1E)-3-[[2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-オキソエチル](メチル)アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート(125mg、0.299mmol)と、tert-ブチルブロモアセテート(122mg、0.627mmol)と、ヨウ化テトラブチルアンモニウム(11mg、0.03mmol)との溶液に、氷浴で冷却しながら炭酸カリウム(86.7mg、0.627mmol)を添加した。反応混合物を60°Cで30分間攪拌した後、減圧下で濃縮し、残渣を酢酸エチルと水とで分配した。反応混合物を酢酸エチルで抽出した。有機相を水および飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をクロロホルム-メタノール(10:1)混液で溶出する分取薄膜シリカゲルクロマトグラフィーで精製し、式:

[0050] [化15]

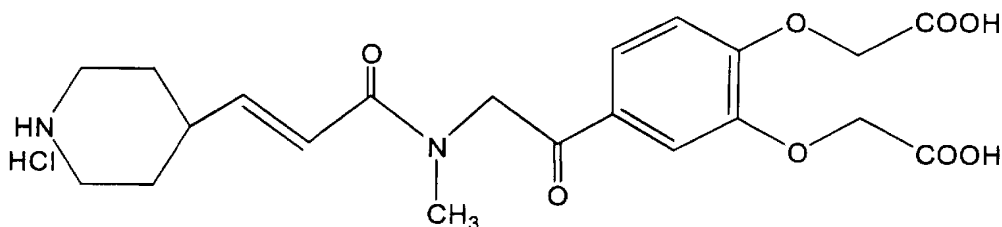


[0051] で表されるtert-ブチル 4-[(1E)-3-[[2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキソエトキシ)フェニル]-2-オキソエチル](メチル)アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート(183mg、94.8%)を油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ; 1.24-1.51(2H, m), 1.47(9H, s), 1.48(9H, s), 1.49(9H, s), 1.71-1.80(2H, m), 2.26-2.40(1H, m), 2.66-2.84(2H, m), 3.13(3H, s), 4.03-4.20(2H, m), 4.63(2H, s), 4.68(2H, s), 4.82(2H, s), 6.33(1H, d,  $J=15.0\text{Hz}$ ), 6.82(1H, d,  $J=8.4\text{Hz}$ ), 6.89(1H, dd,  $J=15.0, 8.4\text{Hz}$ ), 7.49(1H, s), 7.60(1H, d,  $J=8.4\text{Hz}$ );  $\text{MS}(\text{ES}^+)$   $m/z$ 647( $\text{M}+1$ )

[0052] ジオキサン(0.5ml)中のtert-ブチル-4-[(1E)-3-[[2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキソエトキシ)フェニル]-2-オキソエチル](メチル)アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート(5.6mg、8.66  $\mu\text{mol}$ )の溶液に、氷浴で冷却しながらジオキサン(1.5ml)中の4N HClを滴下した。反応混合物を60℃で5分間攪拌した後、減圧下で濃縮して、式:

[0053] [化16]



[0054] で表される2,2'-[[4-([メチル[(2E)-3-(4-ピペリジニル)-2-プロペノイル]アミノ]アセチル)-1,2-フェニレン]ビス(オキシ)]ジ酢酸塩酸塩(3.8mg、80.3%)を粉末とし

て得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ; 1.43-2.16(4H, m), 2.80-3.48(7H, m),  
3.12(3x0.5H, s), 3.20(3x0.5H, s), 4.87(2H, brs), 4.92-4.99(4H, m), 6.29(1H, brd),  
6.57-6.79(1H, m), 7.07-7.19(1H, m), 7.50(1H, brs), 7.72-7.80(1H, m),  
8.86-9.13(1H, brs); MS(ES $^+$ )  $m/z$ 435(M+1)

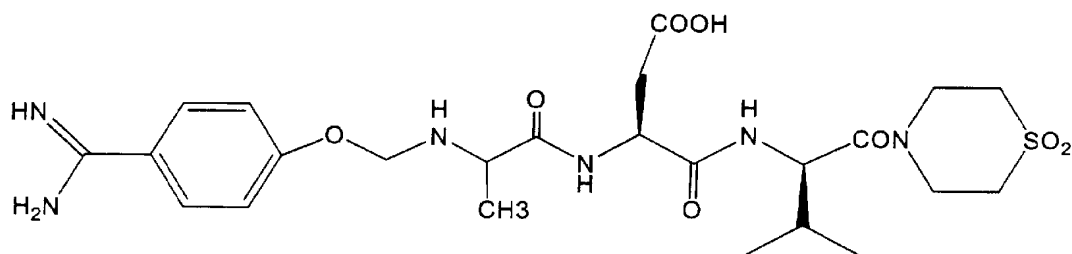
[0055] 製造例2 N-[(3R)-1-[3-(4-ピペリジル)プロピオニル]-3-ピペリジルカルボニル]-2(S)-メトキシカルボニルアミノ- $\beta$ -アラニンの製造

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法(実施例19)に従い、上記の式(III-1)の化合物を製造した。

[0056] 製造例3

公知の方法に従い、式:

[0057] [化17]

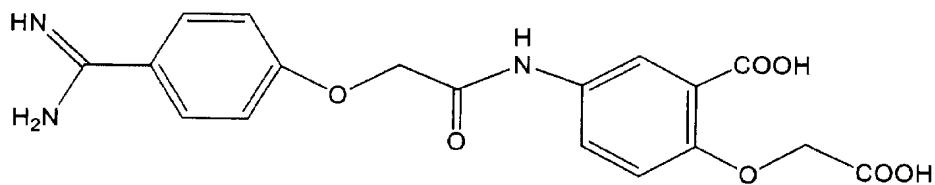


[0058] で表される化合物を製造した。

製造例4

公知の方法に従い、式:

[0059] [化18]

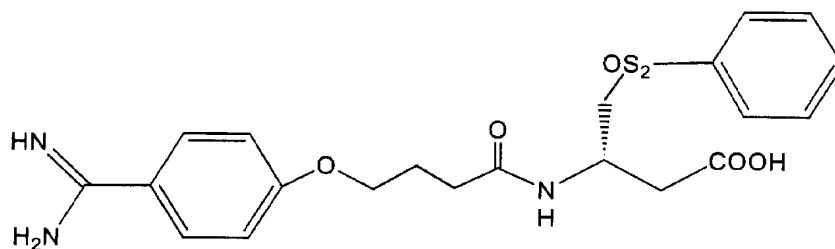


[0060] で表される化合物を製造した。

製造例5

公知の方法に従い、式:

[0061] [化19]

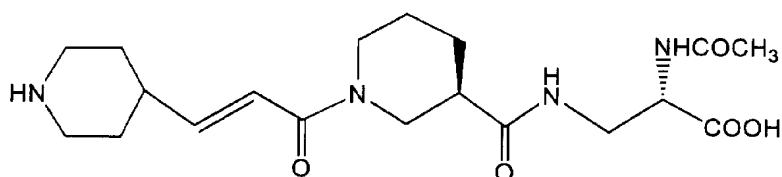


[0062] で表される化合物を製造した。

製造例6

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式:

[0063] [化20]

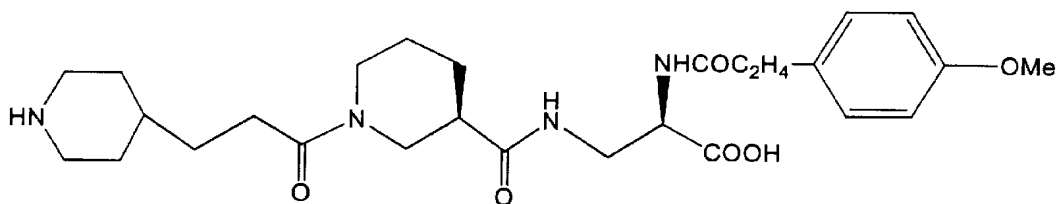


[0064] で表される化合物を製造した。

製造例7

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式:

[0065] [化21]



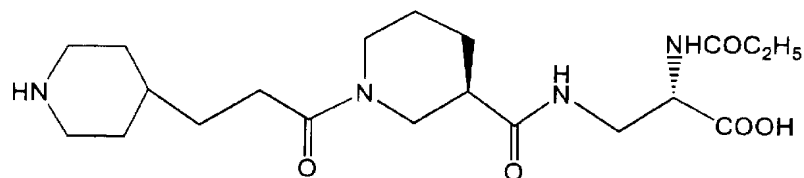
[0066] で表される化合物を製造した。

製造例8

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式:



[0067] [化22]

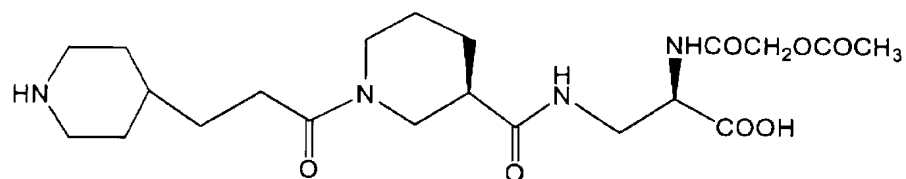


[0068] で表される化合物を製造した。

製造例9

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0069] [化23]

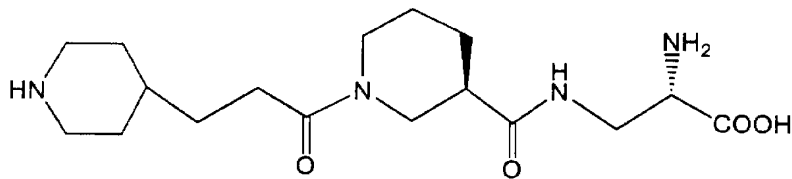


[0070] で表される化合物を製造した。

製造例10

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0071] [化24]

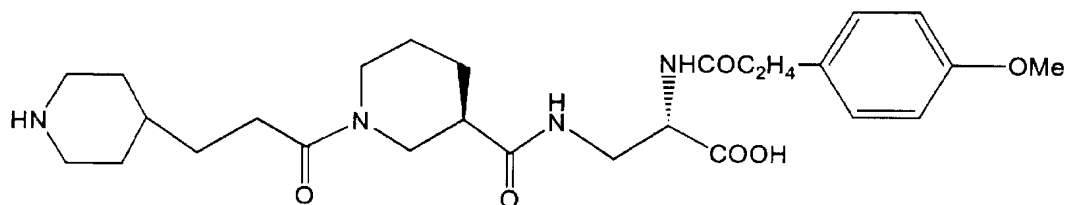


[0072] で表される化合物を製造した。

製造例11

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0073] [化25]

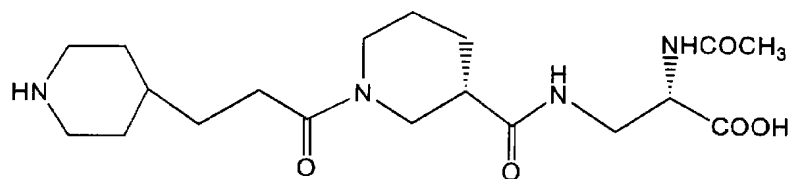


[0074] で表される化合物を製造した。

製造例12

国際公開公報01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0075] [化26]

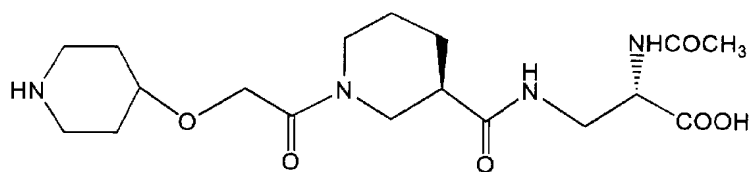


[0076] で表される化合物を製造した。

製造例13

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0077] [化27]

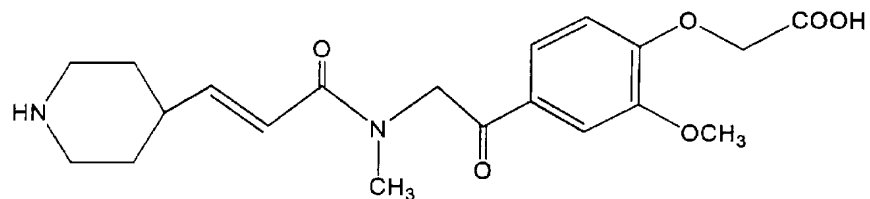


[0078] で表される化合物を製造した。

製造例14

公知の方法に従い、式：

[0079] [化28]

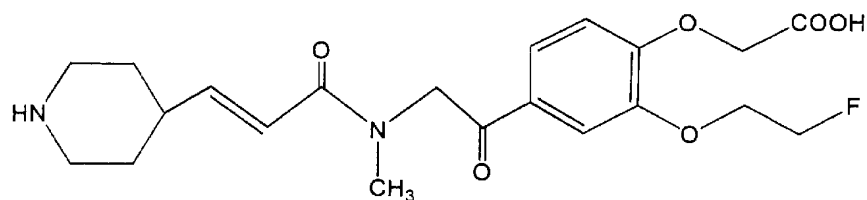


[0080] で表される化合物を製造した。

製造例15

公知の方法に従い、式:

[0081] [化29]

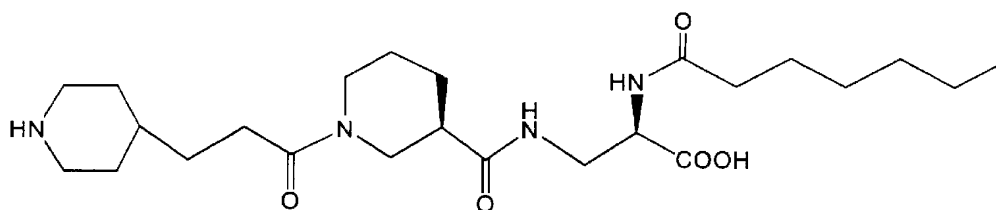


[0082] で表される化合物を製造した。

製造例16

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式:

[0083] [化30]

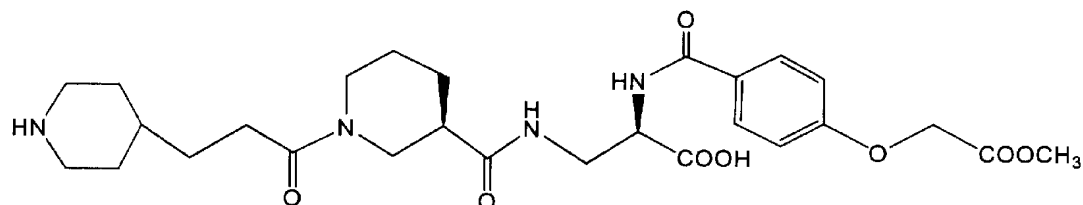


[0084] で表される化合物を製造した。

製造例17

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式:

[0085] [化31]

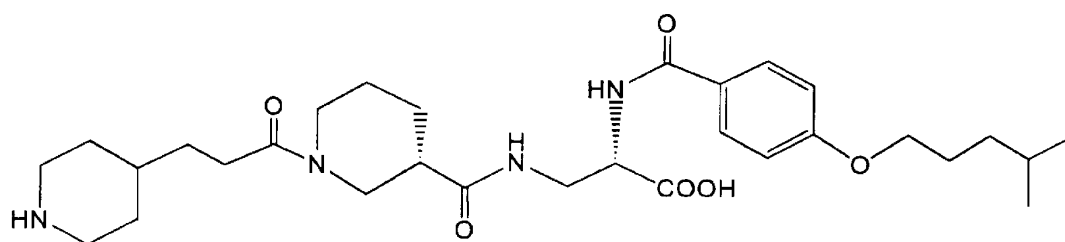


[0086] で表される化合物を製造した。

[0087] 製造例18

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0088] [化32]

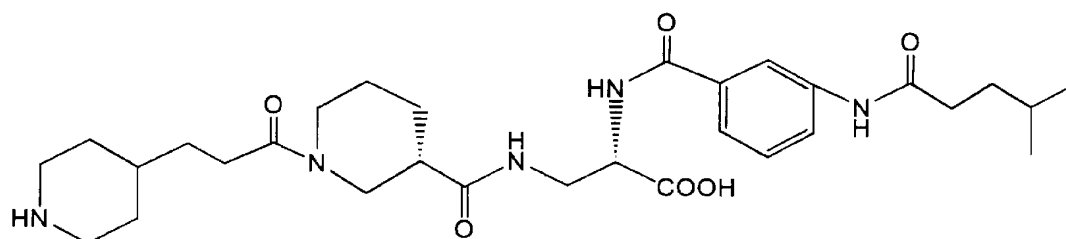


[0089] で表される化合物を製造した。

[0090] 製造例19

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0091] [化33]

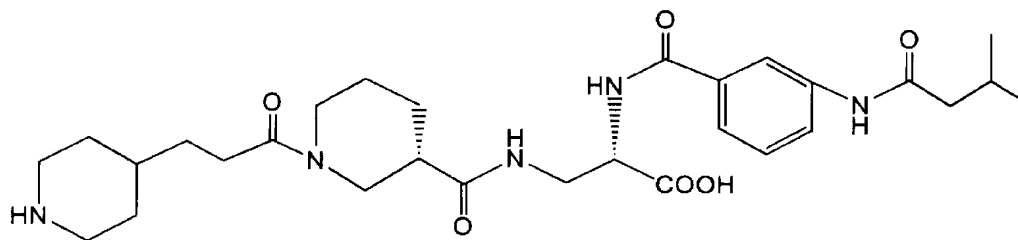


で表される化合物を製造した。

[0092] 製造例20

国際公開公報WO01/60813号に記載の方法に従い、式：

[0093] [化34]



[0094] で表される化合物を製造した。

[0095] 実施例1～20および参考例1～4

製造例1～20で製造した化合物を用いて、以下の試験を行った。また、参考例1～4として、GPIIb／IIIa結合剤として知られるヘビ毒タンパク質、エキスタチン (Echistatin)、ならびに、抗血栓症薬であるチロフィバン (Tirofiban; MK383)、ラミフィバン (Lamifiban; Ro44-9883) およびFK633を用いて同様に以下の試験を行った。結果を表1-1～表1-3に示す。

[0096] 試験1 アデノシンジホスフェート(ADP)により誘導される血小板凝集阻害活性の測定

$3 \times 10^8$  の血小板 / ml を含有する血小板豊富な血漿 (PRP) を人血から調製した。25  $\mu$  l の PRP に、試験化合物の水溶液 25  $\mu$  l を加え、その後 37℃ で 2 分間攪拌した。その溶液に、5  $\mu$  l の ADP (最終的には 2.5  $\mu$  M) を凝集誘導物質として加えた。凝集をアグリゴメータ (aggregometer) (NBS HEMA-TRACER 801) を用いて測定した。試験手順としては、以下のとおりであった; PRP の光透過度を 100% に校正した。PRP をアグリゴメータ内、37℃ で 2 分間インキュベーションした。血小板凝集の完全な応答が得られたときに ADP を添加し、光透過率の変化を PL500 レコーダー (横河電機社製) によりモニターした。試験化合物の非存在下での凝集との比較により試験化合物の凝集阻害の割合を算出した。誘導物質 (試験化合物) の活性を IC<sub>50</sub> 値、すなわち血小板凝集を完全に阻害するのに必要な用量で表した。

試験1の値が小さいほど、活性型 GPIIb／IIIa に対する試験化合物の結合性が高いことを表す。

[0097] 試験2 プロスタグランジン E1 (PGE1) 処理血小板のフィブリノゲン粘着抑制活性の

## 測定

ヒト静脈血を採取し、クエン酸ナトリウムと混合した。全血から遠心分離により血小板豊富な血漿(PRP)を調製した。血小板を $1 \mu\text{M}$  PGE1を含む調製HEPES-Tyrodeバッファ(129mM NaCl、2.8mM KCl、0.8mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、8.9mM  $\text{NaHCO}_3$ 、0.8mM  $\text{MgCl}_2$ 、10mM HEPES、5.5mM グルコース、0.1% BSA、pH7.4)で洗浄した。洗浄後、1.0mM  $\text{CaCl}_2$ 、 $1 \mu\text{M}$  PGE1を含む調製HEPES-Tyrodeバッファに血小板を懸濁し、血小板の数を調整した。

- [0098] 粘着アッセイは以下のようにして行った;96ウェルマイクロタイタープレートに $1 \mu\text{g}$  /ウェルのヒトフィブリノーゲンでコートし、次いで、プレートを1% BSAでブロックした。プレートをバッファで洗浄した後、試験化合物またはバッファの存在下、洗浄した血小板を各ウェルに添加し、 $37^\circ\text{C}$ で30分間インキュベーションした。その後、プレートをバッファで3回洗浄した。410nmにおいてマイクロプレートリーダーを用いて細胞の酸性ホスファターゼ活性を測定し、粘着した細胞の数を決定した。試験化合物の非存在下での粘着と比較することにより、試験化合物で処理したサンプルの粘着阻害の割合を算出した。試験化合物の活性を $\text{IC}_{50}$ 値、すなわち血小板粘着を完全に阻害するのに必要な用量で表した。

試験2の値が大きいほど、静止型GPIIb/IIIaに対する試験化合物の結合性が低いことを表す。

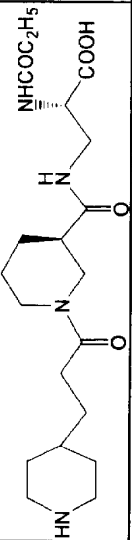
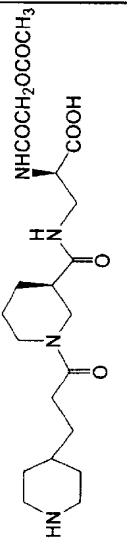
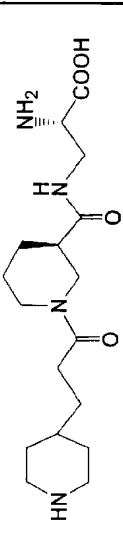
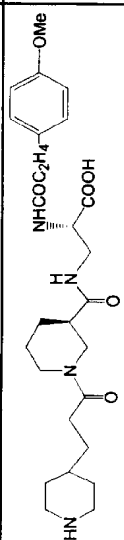
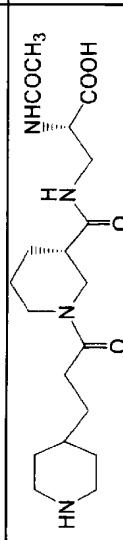
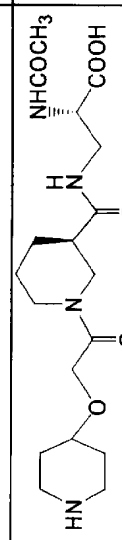
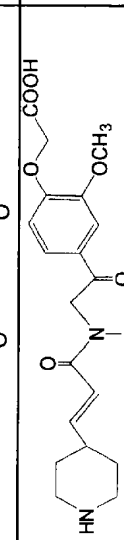
- [0099] 試験1で得られた $\text{IC}_{50}$ 値(A)および試験2で得られた $\text{IC}_{50}$ 値(R)を用いて、R/A比を算出することにより、活性型GPIIb/IIIaに対する試験化合物の選択的結合性を評価した。

結果を、表1-1〜表1-4に示す。

- [0100] [表1-1]

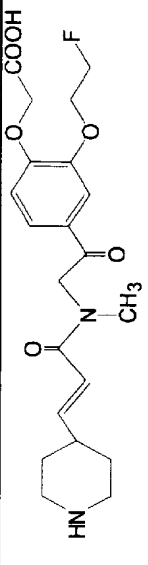
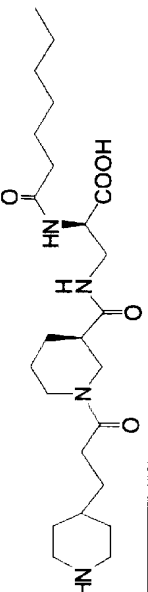
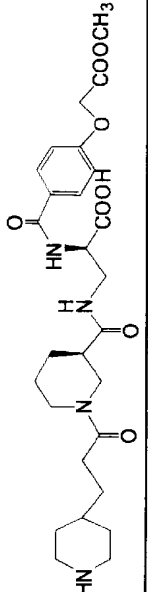
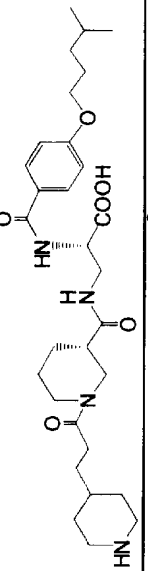
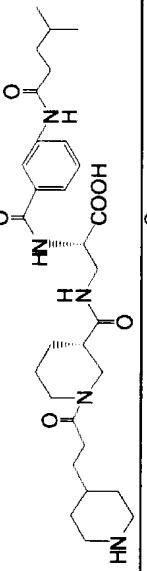
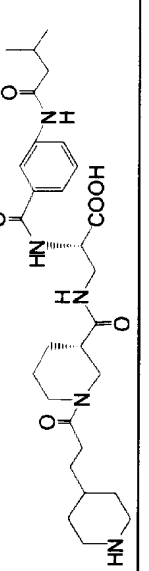
	化合物の構造	A 血小板 凝集阻害 IC <sub>50</sub> (nM)	R フィブリノゲン 粘着抑制 IC <sub>50</sub> (nM)	R/A比
実施例1		135	7900	59
実施例2		53	298	5.6
実施例3		73	1350	18
実施例4		260	1630	6.3
実施例5		80	770	9.6
実施例6		56	434	7.8
実施例7		35	533	15

[0101] [表1-2]

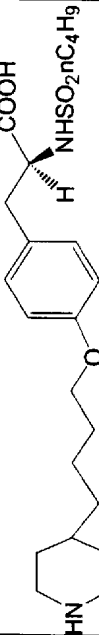
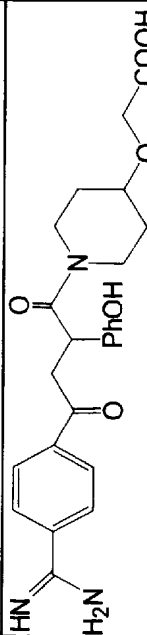
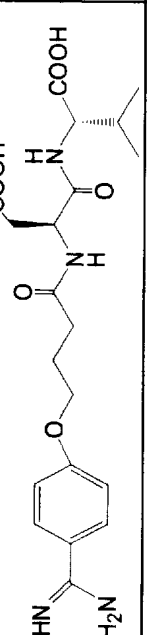
	化合物の構造	A 血小板 凝集阻害 IC <sub>50</sub> (nM)	R フィブリノゲン 粘着抑制 IC <sub>50</sub> (nM)	R/A比
実施例8		49	1525	11
実施例9		55	727	13
実施例10		272	2510	9.2
実施例11		88	479	6.5
実施例12		791	5160	6.5
実施例13		817	10600	13
実施例14		291	4050	14

[0102] [表1-3]



	化合物の構造	A 血小板 凝集阻害 IC <sub>50</sub> (nM)	R フィブリノゲン 粘着抑制 IC <sub>50</sub> (nM)	R/A比
実施例15		320	6210	19
実施例16		32.4	198	6.1
実施例17		29.9	486	16
実施例18		6.1	48	7.9
実施例19		9.1	151	17
実施例20		30	239	8.0

[0103] [表1-4]

	化合物の構造	A 血小板 凝集阻害 IC <sub>50</sub> (nM)  μg/ml	R フィブリノゲン 粘着抑制 IC <sub>50</sub> (nM)  μg/ml	R/A比
参考例1		0.36 μg/ml	0.14 μg/ml	0.38
参考例2		46	36	0.78
参考例3		45	80	1.8
参考例4		103	1320	13

[0104] 表1-1～表1-4から明らかなように、本発明の血栓造影剤におけるGPIIb／IIIa結合性化合物は、R／A値が高く、活性型GPIIb／IIIaへの選択的結合性が高いことが示された。

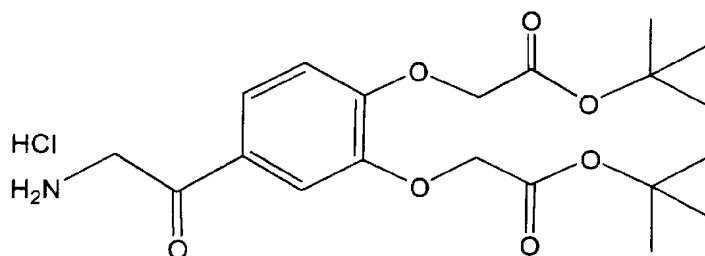
本発明の血栓造影剤に用いるGPIIb／IIIa結合性化合物は、従来技術に示された

ADP誘導血小板凝集阻害試験における $IC_{50}$  値より低い $IC_{50}$  値を示しており、ADPで活性化された血小板の表面のGPIIb／IIIaに結合することが明らかである。

[0105] 製造例21 血栓造影剤の製造

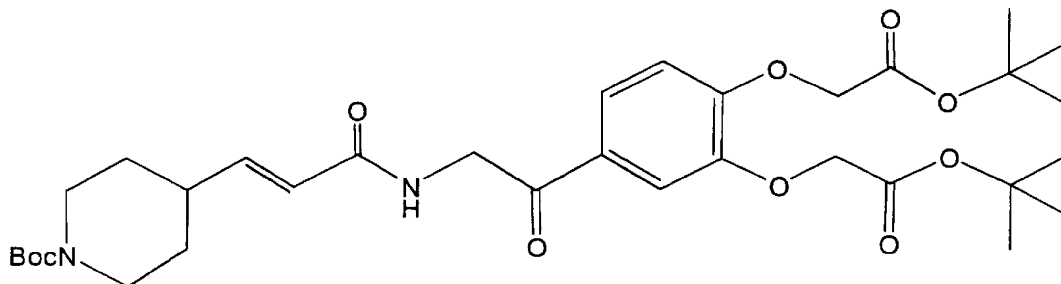
DMF (10ml) 中の(2E)-3-[1-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ピペリジニル]アクリル酸(1.6g、6.27mmol)、式:

[0106] [化35]



[0107] で表されるジ-tert-ブチル 2,2'-[[4-(アミノアセチル)-1,2-フェニレン]ビス(オキシ)]ジ酢酸塩酸塩(2.71g、6.27mmol)、およびプロモトリピロリジオノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(3.42g、6.58mmol)に、氷浴で冷却しながらN,N-ジイソプロピルエチルアミン(2.51g、19.1mmol)を滴下した。反応混合物を0℃で20分間攪拌した後、室温で30分間攪拌した。反応混合物を減圧下に濃縮し、残渣を酢酸エチルと水とに分配した。反応混合物を酢酸エチルで抽出した。有機相を0.5N硫酸水素カリウム水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をクロロホルム-酢酸エチル(9:1)混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、式:

[0108] [化36]

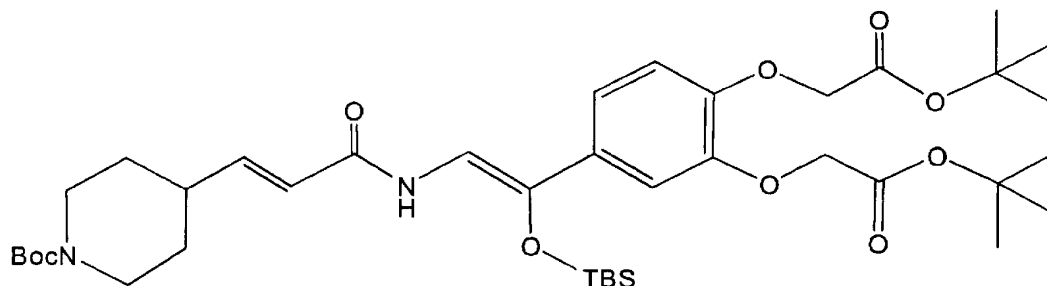


[0109] で表されるtert-ブチル 4-[(1E)-3-[[2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキシエトキシ)フェニル]-2-オキシエチル]アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレートを生じた。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ; 1.18-1.36(2H, m), 1.49(9H, s), 1.53(18H, s), 1.71-1.84(2H, m), 2.32-2.47(1H, m), 2.74-2.99(2H, m), 3.94-4.11(2H, m), 4.71(2H, d,  $J=5.5\text{Hz}$ ), 4.85(2H, s), 4.91(2H, s), 6.14(1H, d,  $J=15.4\text{Hz}$ ), 6.70(1H, dd,  $J=15.4, 6.2\text{Hz}$ ), 7.09(1H, d,  $J=8.8\text{Hz}$ ), 7.49(1H, d,  $J=2.2\text{Hz}$ ), 7.76(1H, dd,  $J=8.8, 2.2\text{Hz}$ ), 8.36(1H, brt,  $J=5.5\text{Hz}$ ); MS( $\text{ES}^+$ ) $m/z$ は検出されず

[0110]  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (10ml)中のtert-ブチル 4-[(1E)-3-[[2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキシエトキシ)フェニル]-2-オキシエチル]アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート(3.6g, 5.69mmol)および塩化tert-ブチルジメチルシリル(1.29g, 8.53mmol)の溶液に、氷浴で冷却しながら1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデセ-7-エン(1.47g, 9.67mmol)を滴下した。反応混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣を酢酸エチルと水とで分配した。反応混合物を酢酸エチルで抽出した。有機相を1N HCl水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をヘキサン-酢酸エチル(4:1)混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、式:

[0111] [化37]

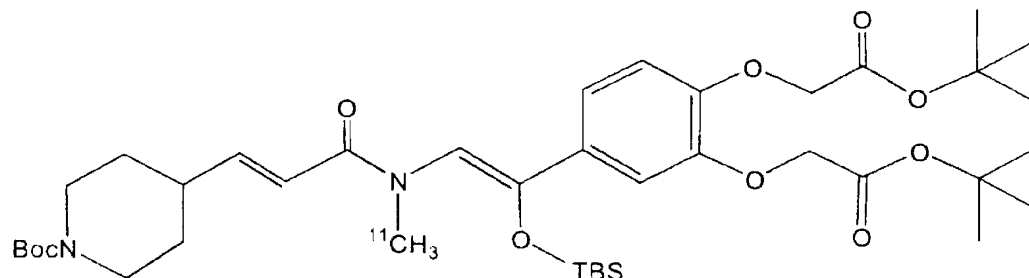


[0112] で表される4-[(1E)-3-[[[(Z)-2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキシエトキシ)フェニル]-2-[[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ]ビニル]アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート]を非晶質で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ; 0.02-0.08(6H, m), 0.98(9H, s), 1.15-1.30(2H, m), 1.43(9H, s), 1.44(9H, s), 1.46(9H, s), 1.61-1.78(2H, m), 2.27-2.48(1H, m), 2.68-2.91(2H, m), 3.88-4.04(2H, m), 4.70(2H, s), 4.72(2H, s), 6.23(1H, d,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 6.71(1H, d,  $J=6.2\text{Hz}$ ), 6.76(1H, d,  $J=6.2\text{Hz}$ ), 6.85-6.94(2H, m), 7.01(1H, dd,  $J=8.1, 1.8\text{Hz}$ ); MS( $\text{ES}^+$ ) $m/z$ は検出されず

[0113] DMF(2ml)中の4-[(1E)-3-[[[(Z)-2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキシエトキシ)フェニル]-2-[[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ]ビニル]アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレート]の溶液に、氷浴で冷却しながら水素化ナトリウム(17.7mg、736mmol)を逐次添加し、0℃で5分間攪拌した。次いで反応混合物に、 $^{11}\text{C}\text{CH}_3\text{I}$ (105mg、736mmol)を同温度で添加して5分間攪拌し、室温で5分間攪拌した。反応混合物を酢酸エチルとリン酸緩衝液標準溶液(pH6.86)とで分配した。反応混合物を酢酸エチルで抽出した。有機相を水および飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をヘキサン-酢酸エチル(1:1)混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、式:

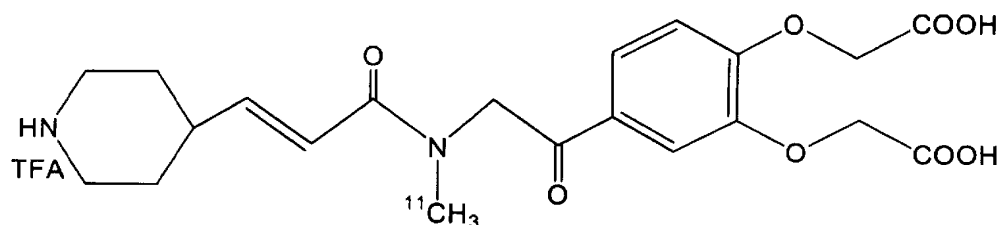
[0114] [化38]



[0115] で表される4-[(1E)-3-[(Z)-2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキシエトキシ)フェニル]-2-[[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ]ビニル)(<sup>11</sup>C)メチル)アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレートを非晶質で得た。

[0116] トリフルオロ酢酸(TFA; 1ml)およびCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1ml)の混合物に、氷浴で冷却しながらCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.5ml)中の4-[(1E)-3-[(Z)-2-[3,4-ビス(2-tert-ブトキシ-2-オキシエトキシ)フェニル]-2-[[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ]ビニル)(<sup>11</sup>C)メチル)アミノ]-3-オキソ-1-プロペン-1-イル]-1-ピペリジンカルボキシレートを滴下した。反応混合物を室温で30分間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮し、アセトニトリル-水(10:1)混液で溶出するODSクロマトグラフィーで精製し、式：

[0117] [化39]



[0118] で表される2,2'-[[4-[(<sup>11</sup>C)メチル[(2E)-3-(4-ピペリジニル)-2-プロペノイル]アミノ]アセチル]-1,2-フェニレン]ビス(オキシ)]ジ酢酸トリフルオロ酢酸塩を非晶質で得た。

[0119] 製造例22 血栓造影剤の製造

製造例15で製造したアセトニトリル(1.5mL)中の化合物(13.0mg, 30 μmol)の溶液を、[<sup>18</sup>F]フッ素イオンの溶液に添加した。混合物を85℃で20分間加熱した。室温に冷却後、4M HCl(1.0mL)を添加した。混合物を100℃で10分間加熱した。

得られた混合物を、0.1%アセトニトリル-0.05M  $\text{NH}_4\text{OAc}$ で溶出するHPLCカラム(YMC-パック C18 Pro、10×250mm、YMC社製)で精製して、 $^{18}\text{F}$ で標識された血栓造影剤を得た。

[0120] 実施例21および22

製造例21で製造した $^{11}\text{C}$ で標識された血栓造影剤、および製造例22で製造した $^{18}\text{F}$ で標識された血栓造影剤を用いて、サル(Macca fascicularis)の体内での標識化合物の動向を調べた。

イヌ伏在静脈(足の母指の背側指静脈と足背静脈弓の合流によりつくられ、内果の前方、大腿骨内側顆の後方上行し、大腿広筋膜の伏在裂孔を横切り、大腿三角の上部で大腿静脈に注ぐ)血栓モデル(Knight L. C. et al., Thromb Haemost., 1998; 80: p.845-851およびLister-James L. et al., J. Nucl Med. 1996; 37: p.775-781を参照)に従って、麻酔下のサルの右大腿静脈に塞栓形成用プラチナコイル(ボストンサイエンティフィックジャパン社製)を挿入、固定して傷口を縫合した。

[0121] コイル挿入3時間後に、製造例21および22で製造した血栓造影剤(740MBq/2 mL生理食塩水)をそれぞれ静脈内投与した。その後、高分解能陽電子放射型断層撮影(PET)スキャナ(SHR-7700、浜松ホトニクス社製)を用いて90分間撮影を行った。PET測定後、コイルを除去して右大腿静脈を採取して血栓サンプルを得た。また、大腿筋肉を採取し、さらに伏在動脈から動脈血を採取した。これらの血栓、大腿筋肉および動脈血のサンプルをそれぞれ秤量し、ガンマカウンター(1480WIZARD; Wallac Oy社製)を用いてそれらの放射活性を測定した。

結果を以下の表2に示す。データは、パーセント/投与量として計算した(%ID/kg/g)。

[0122] [表2]

サル血栓モデルにおける血栓造影剤投与90分後の血栓、血液および筋肉への放射能の集積					
血栓造影剤	血栓 (%ID/g/kg)	血液 (%ID/g/kg)	筋肉 (%ID/g/kg)	血栓/血液比	血栓/筋肉比
製造例21 ( $^{11}\text{C}$ 標識)	1.902±1.132	0.084±0.012	0.021±0.005	24.2±17.9	94.8±65.0
製造例22 ( $^{18}\text{F}$ 標識)	0.208±0.028	0.043±0.004	0.013±0.002	4.8±0.8	16.3±2.7

[0123] 表2から明らかなように、投与の90分後に、製造例21の血栓造影剤は約24倍(血液比)、および約95倍(筋肉比)の比で血栓に集積し、製造例22の血栓造影剤は、約4.8倍(血液比)、および16倍(筋肉比)の比で血栓に集積した。すなわち、本発明の血栓造影剤は、血栓に特異的に結合することがわかる。

また、PETによる撮影では、バックグラウンドノイズが低く、解像度が高い血栓の撮影を行うことが可能であった。

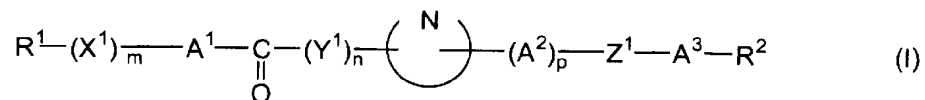


## 請求の範囲

[1] 糖タンパク質IIb／IIIa結合性化合物を標識化してなる物質を作用物質として含む血栓造影剤。

[2] 一般式(I):

[化1]



(式中、 $R^1$ は、1つ以上の置換基を有していてもよいN-含有シクロアルキル基を表し； $R^2$ は、カルボキシ基または保護されたカルボキシ基を表し；

$A^1$ は、それぞれ1つ以上の置換基を有していてもよい低級アルキレン基、低級アルカニル-イリデン基または低級アルケニレン基を表し；

$A^2$ は、低級アルキレン基を表し；

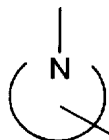
$A^3$ は、1つ以上の置換基を有していてもよい低級アルキレン基を表し；

[化2]



で表される部分は、式：

[化3]



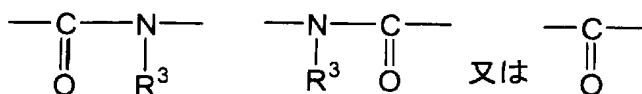
で表される、1つ以上の置換基を有していてもよいN-含有複素環式基であり；

$X^1$ は、O、SまたはNHを表し；

$Y^1$ は、NHを表し；

$Z^1$ は、

[化4]

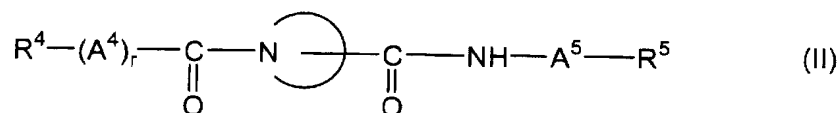


(ここで、 $R^3$ は水素原子または低級アルキル基である)を表し;

$m, n$ および $p$ は、同一または異なって、それぞれ、0または1の整数を表す)

で表される化合物および生理的に許容されるその塩、または一般式(II):

[化5]



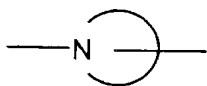
(式中、 $R^4$ は、ピペリジル基、テトラヒドロピリジル基、アゼチジニル基またはテトラヒドロイソキノリル基を表し、これらのピペリジル基、テトラヒドロピリジル基、アゼチジニル基およびテトラヒドロイソキノリル基はアミノ保護基を有していてもよい;

$R^5$ は、カルボキシ基または保護されたカルボキシ基を表し;

$A^4$ は、低級アルキレン基、低級アルカニルイリデン基、低級アルケニレン基、シクロ(低級)アルキレン基またはアリーレン基を表し;

$A^5$ は、アリーレン基または1つ以上の置換基を有していてもよい低級アルキレン基を表し;

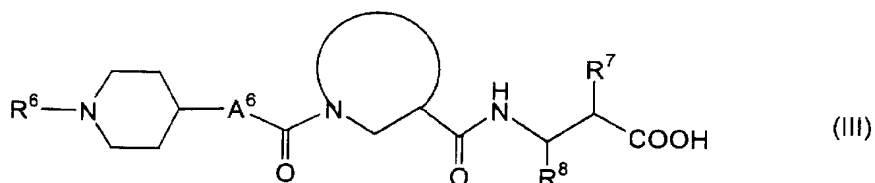
[化6]



で表される部分は、ピペリジンジイル基またはテトラヒドロイソキノリンジイル基を表し; $r$ は、0または1の整数を表す)

で表される化合物および生理的に許容されるその塩、または一般式(III):

[化7]



(式中、 $R^6$ は、水素原子またはアミノ保護基を表し；

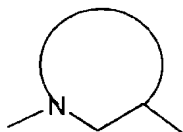
$A^6$ は、低級アルキレン基または低級アルケニレン基を表し；

$R^7$ は、水素原子；またはアミノ、低級アルカノイルアミノ、アル(低級)アルコキシカルボニルアミノ、アリール、アロイルアミノ、カルボキシ、低級アルコキシカルボニルアミノ、アル(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、低級アルカノイルオキシ、低級アルコキシもしくはヒドロキシ(これらのうち、アリールおよびアロイルアミノはさらにカルボキシ、低級アルコキシもしくは低級アルコキシカルボニルで置換されていてもよい)で置換されていてもよい低級アルカノイル基；低級アルコキシ、アリールもしくはシクロ(低級)アルキルで置換されていてもよい低級アルコキシカルボニル基；低級アルケニルオキシカルボニル基；ジ(低級)アルキルアミノスルホニル基；低級アルコキシで置換されていてもよいシクロアルカノイル基； $(C_3-C_6)$ アルコキシ、カルバモイル(低級)アルコキシ、N-(低級)アルキルカルバモイル(低級)アルコキシ、N,N-ジ(低級)アルキルカルバモイル(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、ニトロ、シアノ、カルボキシ、カルボキシ(低級)アルコキシ、アル(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニル(低級)アルコキシ、シクロ(低級)アルコキシ、低級アルコキシカルボニルアミノ、シクロ(低級)アルキル(低級)アルコキシ、低級アルカノイルアミノもしくは低級アルキルカルバモイルで置換されていてもよいアロイル基；アリールオキシカルボニル基；ヘテロサイクリルカルボニル基；保護されたカルボキシカルボニル基ならびにヘテロサイクリルオキシカルボニル基からなる群から選択されるアシル基で置換されていてもよいアミノ基を表し；

$R^8$ は、水素原子または1つ以上のヒドロキシおよび／または低級アルコキシで置換されていてもよいアリールもしくはアラルキル基を表し；

式：

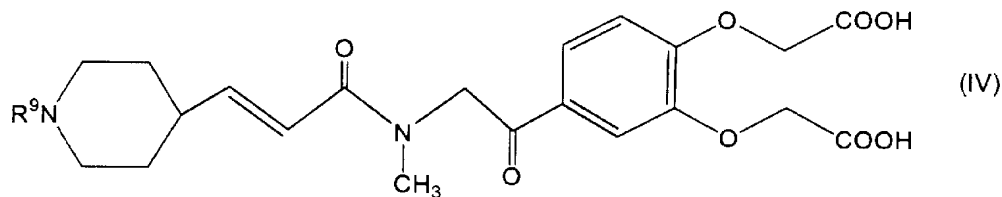
[化8]



で表される部分は、2価のN-含有6-8員の複素環式基を表す)

で表される化合物および生理的に許容されるその塩、または一般式(IV):

[化9]

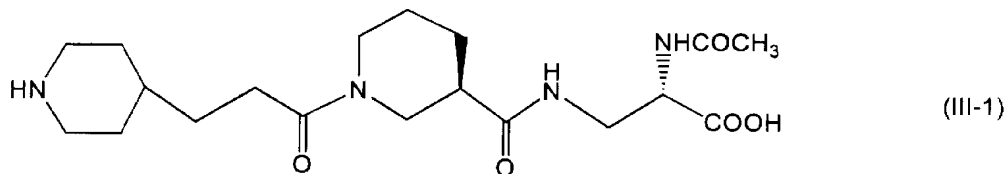


(式中、 $R^9$ は水素原子またはアミノ保護基を表す)

で表される化合物および生理的に許容されるその塩から選択される糖タンパク質IIb／IIIa結合性化合物を標識化してなる物質を作用物質として含む血栓造影剤。

[3] 前記糖タンパク質IIb／IIIa結合性化合物が、式(III-1):

[化10]



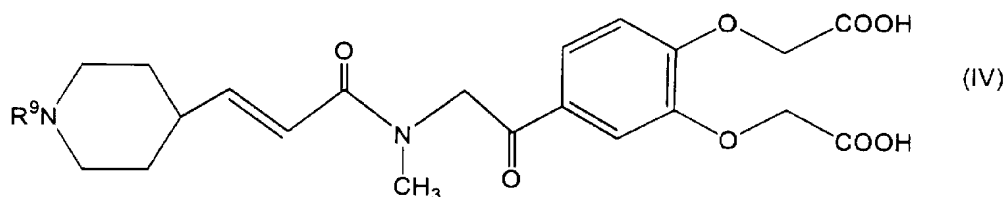
で表される化合物または生理的に許容されるその塩である請求項2に記載の血栓造影剤。

[4] 前記糖タンパク質IIb／IIIa結合性化合物が、陽電子放出同位元素により標識化してなるものである請求項1～3のいずれか1つに記載の血栓造影剤。

[5] 前記糖タンパク質IIb／IIIa結合性化合物が、 $^{11}\text{C}$ により標識化してなるものである請求項1～4のいずれか1つに記載の血栓造影剤。

[6] 一般式(IV):

[化11]



(式中、 $R^9$ は水素原子またはアミノ保護基を表す)

で表される化合物および生理的に許容されるその塩。

- [7] 請求項1〜5のいずれか1つに記載の血栓造影剤を哺乳動物に投与し、血栓に局在化した標識を検出する工程を含むことを特徴とする血栓の検出方法。
- [8] 前記検出する工程が、陽電子放射型断層撮影法を用いて行われる請求項7に記載の検出方法。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000308

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K49/00, 51/04//C07D207/04, 295/18, C07C251/24, 317/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K49/00-51/12, C07D207/00-207/04, 295/00-295/18,  
C07C251/00-251/24, 317/00-317/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 11-511120 A (Sentoko Inc.), 28 September, 1999 (28.09.99), Claims; examples; page 24, 3rd line from the bottom to page 25, line 9	1 2-6
X Y	JP 2001-504801 A (G.D.Searle & Co.), 10 April, 2001 (10.04.01), Claims; examples; page 35, lines 10 to 16; page 40, lines 9 to 17	1, 4 2, 3, 5, 6
X Y	JP 2003-503310 A (Diatide, Inc.), 28 January, 2003 (28.01.03), Claims; examples; page 10, 6th line from the bottom to page 11, line 15	1 2-6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
22 February, 2005 (22.02.05)

Date of mailing of the international search report  
08 March, 2005 (08.03.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000308

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2000-506524 A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 30 May, 2000 (30.05.00), Full text	2-5
Y	JP 11-502224 A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 23 February, 1999 (23.02.99), Claims; test; preparation example; examples; page 11, lines 6 to 9	2-6
Y	JP 2003-523339 A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 05 August, 2003 (05.08.03), Claims; test; preparation example; examples Par. Nos. [0065] to [0068]	2-6
Y	JP 8-53415 A (Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.), 27 February, 1996 (27.02.96), Claims; test; preparation example; examples Par. No. [0003]	2-5
Y	WO 94/21599 A1 (Meiji Seika Kaisha, Ltd.), 29 September, 1994 (29.09.94), Claims; examples	2-6
Y	JP 8-505846 A (SmithKline Beecham Corp.), 25 June, 1996 (25.06.96), Claims; examples; page 10, 5th line from the bottom to page 11, line 2	2-6
Y	JP 2-235853 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 18 September, 1990 (18.09.90), Claims; examples; page 6, lower left column, 7th line from the bottom to lower right column, line 11	2-6
Y	WO 02/055544 A2 (DYAX CORP.), 18 July, 2002 (18.07.02), Claims; page 36, line 18 to page 38, line 5	4,5
Y	WO 02/016333 A2 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH), 28 February, 2002 (28.02.02), Page 39, line 24 to page 44, line 21; example 6	4,5

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2005/000308

JP 11-511120 A	1999.09.28	WO 96/40250 A2 AU 9663323 A EP 835135 A2 AU 9958388 A CN 1186439 A AU 2002328387 A1
JP 2001-504801 A	2001.04.10	WO 97/47329 A2 AU 9734749 A ZA 9705122 A EP 910416 A2 US 6132697 A
JP 2003-503310 A	2003.01.28	WO 00/61195 A1 US 6171578 B1 AU 200042431 A EP 1171166 A1
JP 2000-506524 A	2000.05.30.	WO 97/33869 A1 EP 888302 A1 KR 99087694 A US 2001/0016571 A1
JP 11-502224 A	1999.02.23	WO 99/29309 A1 ZA 9602033 A AU 9649542 A EP 869944 A1 KR 98703107 A US 6384028 B1
JP 2003-523339 A	2003.08.05	WO 01/60813 A1 AU 200130617 A EP 1255748 A1 US 2003/0018193 A1 KR 2002073588 A CN 1423647 A US 6812235 B2
JP 8-53415 A	1996.02.27	WO 95/08536 A1 AU 9476657 A ZA 9407350 A EP 669912 A1 BR 9500966 A CN 1116847 A JP 10-72490 A IL 111036 A IL 126825 A JP 2000-103783 A EP 1106606 A2 US 2001/0051730 A1 US 6380215 B1



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2005/000308

WO 94/21599 A1	1994.09.29	AU 9462638 A NO 9404371 A EP 641770 A1 US 5594004 A NZ 262768 A CN 1107277 A US 5698692 A AU 9852084 A
JP 8-505846 A	1996.06.25	WO 94/14775 A1 ZA 9403779 A EP 677043 A1 AU 9463414 A CA 2124396 A NZ 260616 A CN 1114321 A US 5726192 A US 6028087 A
JP 2-235853 A	1990.09.18	EP 381033 A1 AU 9048817 A NO 9000418 A PT 93014 A CA 2008311 A FI 9000463 A ZA 9000510 A US 5084466 A US 5256812 A IL 93170 A US 5399585 A
WO 02/055544 A2	2002.07.18	EP 1348026 A2 AU 2002248222 A1 JP 2004-523514 A
WO 02/016333 A2	2002.02.28	AU 200186702 A US 2002/0133019 A1 NO 200300860 A EP 1334091 A2 US 2003/0236391 A1 BR 200113470 A HU 200302956 A2 JP 2004-506723 A CN 1535268 A

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2005/000308

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7, 8  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The inventions as set forth in claims 7 and 8 pertain to diagnostic methods to be practiced on the human body. (Article 17(2)(a)(i) of the PCT, Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT)
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000308

## Claims 1, 4 and 5

Although a substance obtained by labeling a compound capable of binding to a glycoprotein IIb/IIIa is described as the active substance in claim 1, it is unclear and even a person skilled in the art cannot clearly understand compounds and substances of what chemical structures are involved in the scope of the compound capable of binding to a glycoprotein IIb/IIIa and the substance obtained by labeling the same. Even though the statement in the description is examined, it is not confirmed whether or not such compounds capable of binding to a glycoprotein IIb/IIIa are generally usable as the active substance. Therefore, the description and the claims do not disclose the inventions according to these claims in a manner sufficiently clear and complete for the inventions to be carried out by a person skilled in the art and the inventions according to these claims are unclear and not sufficiently supported by the description (PCT Articles 5 and 6).

Since the inventions are not sufficiently disclosed in the present case, examination on prior art was made exclusively in a reasonable scope depending on the statement in the description in preparing the international search report.

<b>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</b> Int. Cl <sup>7</sup> A61K49/00, 51/04 // C07D207/04, 295/18, C07C251/24, 317/50			
<b>B. 調査を行った分野</b> 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>7</sup> A61K49/00-51/12, C07D207/00-207/04, 295/00-295/18, C07C251/00-251/24, 317/00-317/50			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus(STN), REGISTRY(STN), WPI(DIALOG)			
<b>C. 関連すると認められる文献</b>			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
X Y	JP 11-511120 A(セントコー、インコーポレイテッド) 1999. 09. 28, 請求の範囲, 実施例, 第24頁下から3行-第25頁9行	1 2-6	
X Y	JP 2001-504801 A(ジー・ディー・サル・アント・カンパニー) 2001. 04. 10, 請求の範囲, 実施例, 第35頁10-16行, 第40頁9-17行	1, 4 2, 3, 5, 6	
X Y	JP 2003-503310 A(ディアタイト, インコーポレイテッド) 2003. 01. 28, 請求の範囲, 実施例, 第10頁下から6行-第11頁15行	1 2-6	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 22. 02. 2005		国際調査報告の発送日 08. 3. 2005	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 荒木 英 則 電話番号 03-3581-1101 内線 3450	

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2000-506524 A(藤沢薬品工業株式会社) 2000. 05. 30, 全文参照	2-5
Y	JP 11-502224 A(藤沢薬品工業株式会社) 1999. 02. 23, 請求の範囲, 試験, 調製例, 実施例, 第11頁6-9行	2-6
Y	JP 2003-523339 A(藤沢薬品工業株式会社) 2003. 08. 05, 請求の範囲, 試験, 製造例, 実施例, 【0065】-【0068】	2-6
Y	JP 8-53415 A(藤沢薬品工業株式会社) 1996. 02. 27, 請求の範囲, 試験, 調製例, 実施例, 【0003】	2-5
Y	WO 94/21599 A1(明治製菓株式会社) 1994. 09. 29, 請求の範囲, 実施例	2-6
Y	JP 8-505846 A(スミタライン・ビーチャム・コーポレーション) 1996. 06. 25, 請求の範囲, 実施例第10頁下から5行-第11頁2行	2-6
Y	JP 2-235853 A(エフ・ホフマン・ラ ロシュ アーゲー) 1990. 09. 18, 請求の範囲, 実施例, 第6頁左下欄下から7行-右下欄11行	2-6
Y	WO 02/055544 A2(DYAX CORP.) 2002. 07. 18, 請求の範囲, 第36頁18行-第38頁5行	4, 5
Y	WO 02/016333 A2(UNIVERSITY OF PITTSBURGH) 2002. 02. 28, 第39頁24行-第44頁21行, 実施例 6	4, 5

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7, 8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求の範囲7, 8に係る発明は人体の診断方法に関するものである。  
(PCT17条(2)(a)(i)、PCT規則39.1(iv))
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**請求の範囲 1、4、5について**

請求の範囲 1 では作用物質として糖タンパク質IIb/IIIa結合性化合物を標識化したものが記載されているが、糖タンパク質IIb/IIIa結合性化合物及びこれを標識化したものとしていかなる化学構造を有するものが包含されるかについては、当業者といえども明確に把握できない不明確なものとなっている。また、明細書の記載をみても、かかる糖タンパク質結合性を有する化合物の全般について作用物質として用いられ得ることが確認されているものでもない。してみれば、かかる明細書及び請求の範囲の記載によっては、これらの請求項に係る発明を当業者が実施することができる程度に明確かつ十分に開示されたものとはいえず、また、これらの請求の範囲に係る発明が不明確なものであり、明細書により十分に裏付けられたものともいえない（PCT 5 条及び 6 条）。

そして、本願はこのように発明が十分に開示されていないものであるから、国際調査報告の作成に際しては、明細書の記載から見て合理的な範囲のみを先行技術調査の対象とした。

JP 11-511120 A	1999. 09. 28	WO 96/40250 A2 AU 9663323 A EP 835135 A2 AU 9958388 A CN 1186439 A AU 2002328387 A1
JP 2001-504801 A	2001. 04. 10	WO 97/47329 A2 AU 9734749 A ZA 9705122 A EP 910416 A2 US 6132697 A
JP 2003-503310 A	2003. 01. 28	WO 00/61195 A1 US 6171578 B1 AU 200042431 A EP 1171166 A1
JP 2000-506524 A	2000. 05. 30	WO 97/33869 A1 EP 888302 A1 KR 99087694 A US 2001/0016571 A1
JP 11-502224 A	1999. 02. 23	WO 99/29309 A1 ZA 9602033 A AU 9649542 A EP 869944 A1 KR 98703107 A US 6384028 B1
JP 2003-523339 A	2003. 08. 05	WO 01/60813 A1 AU 200130617 A EP 1255748 A1 US 2003/0018193 A1 KR 2002073588 A CN 1423647 A US 6812235 B2



JP 8-53415 A	1996. 02. 27	WO 95/08536 A1 AU 9476657 A ZA 9407350 A EP 669912 A1 BR 9500966 A CN 1116847 A JP 10-72490 A IL 111036 A IL 126825 A JP 2000-103783 A EP 1106606 A2 US 2001/0051730 A1 US 6380215 B1
WO 94/21599 A1	1994. 09. 29	AU 9462638 A NO 9404371 A EP 641770 A1 US 5594004 A NZ 262768 A CN 1107277 A US 5698692 A AU 9852084 A
JP 8-505846 A	1996. 06. 25	WO 94/14775 A1 ZA 9403779 A EP 677043 A1 AU 9463414 A CA 2124396 A NZ 260616 A CN 1114321 A US 5726192 A US 6028087 A

JP 2-235853 A	1990.09.18	EP 381033 A1 AU 9048817 A NO 9000418 A PT 93014 A CA 2008311 A FI 9000463 A ZA 9000510 A US 5084466 A US 5256812 A IL 93170 A US 5399585 A
WO 02/055544 A2	2002.07.18	EP 1348026 A2 AU 2002248222 A1 JP 2004-523514 A
WO 02/016333 A2	2002.02.28	AU 200186702 A US 2002/0133019 A1 NO 200300860 A EP 1334091 A2 US 2003/0236391 A1 BR 200113470 A HU 200302956 A2 JP 2004-506723 A CN 1535268 A